

KNI-148-A

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: S. Kawano et al.
Serial Number: Unknown
Filed: Concurrently Herewith
Group Art Unit: Unknown
Examiner: Unknown
Title: Analytical Method And Apparatus For Liquid
Sample Using Near Infrared Spectroscopy



TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT

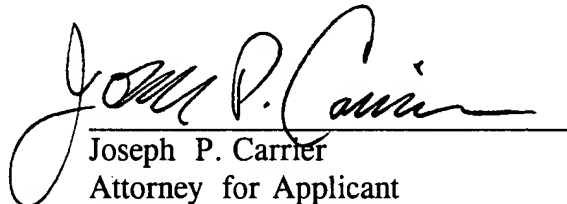
Box Patent Application
Assistant Commissioner For Patents
Washington, D.C. 20231

Sir:

In connection with the above-identified application, applicant encloses for filing a certified copy of: Japanese Patent Application No. 2000-316331, filed 17 October 2000, to support applicant's claim for Convention priority under 35 USC §119.


Respectfully submitted,

Customer Number 21828
Carrier, Blackman & Associates, P.C.
24101 Novi Road, Suite 100
Novi, Michigan 48375
16 March 2001


Joseph P. Carrier
Attorney for Applicant
Registration No. 31,748
(248) 344-4422

I hereby certify that this correspondence is being deposited with the U.S. Postal Service as Express Mail Certificate EL699973332US in an envelope addressed to Box Patent Application, Assistant Commissioner For Patents, Washington, D.C. 20231 on 16 March 2001.

Dated: 16 March 2001
JPC/dp
enclosure


Danielle Patterson

日本国特許庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

Jc973 U.S. PRO
09/810278

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application:

2000年10月17日

出願番号
Application Number:

特願2000-316331

出願人
Applicant(s):

農林水産省食品総合研究所長
生物系特定産業技術研究推進機構

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

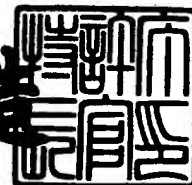
BEST AVAILABLE COPY

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

2001年 1月19日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3114569

【書類名】 特許願

【整理番号】 SHOKU0005

【提出日】 平成12年10月17日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 21/35

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県土浦市永国 1 1 5 3 - 1 5

 【氏名】 河野 澄夫

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市並木 2 - 1 6 - 4 - 3 0 6 - 2 0 5

 【氏名】 伊豫 知枝

【特許出願人】

 【識別番号】 591031360

 【氏名又は名称】 農林水産省食品総合研究所長 鈴木 建夫

【特許出願人】

 【識別番号】 000195568

 【氏名又は名称】 生物系特定産業技術研究推進機構

【代理人】

 【識別番号】 100085257

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 小山 有

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 038807

 【納付金額】 10,500円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 図面 1

 【物件名】 要約書 1

【その他】 国以外のすべての者の持分の割合 5 0 / 1 0 0

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 近赤外分光法を用いた液状試料の分析法および分析装置

【特許請求の範囲】

【請求項1】 試験管内の液状試料に外部から短波長域の近赤外光を照射し、液状試料からの散乱反射光、散乱透過光あるいは透過反射光を光センサーで検出して液状試料の近赤外吸収スペクトルを測定し、この測定値を、同様の方法により測定したスペクトルから予め作成した検量線に代入することによって、液状試料の化学成分または理化学的特性を知ることの特徴とする近赤外分光法を用いた液状試料の分析法。

【請求項2】 請求項1に記載の液状試料の分析法において、前記液状試料に照射される近赤外光の波長は700nm～1100nmであることを特徴とする近赤外分光法を用いた液状試料の分析法。

【請求項3】 請求項1に記載の液状試料の分析法において、前記液状試料は牛乳、果実・野菜ジュース及び食用油などの食品、若しくは胃液、尿、オイル、工場廃水あるいは湖水であることを特徴とする近赤外分光法を用いた液状試料の分析法。

【請求項4】 請求項1に記載の液状試料の分析法において、前記検量線作成用試料のスペクトル測定で、同一規格の複数の試験管を用いることを特徴とする近赤外分光法を用いた液状試料の分析法。

【請求項5】 試験管の収納部を形成したブロックと、光源または試料からの光から短波長域の近赤外光を分光する分光器と近赤外光を検出する光センサーを備えた近赤外装置と、前記光源あるいは前記分光器から発せられた短波長域の近赤外光を収納部内の試験管まで導くとともに試験管内の液状試料からの散乱反射光、散乱透過光あるいは透過反射光を前記分光器を経てあるいは直接前記光センサーまで導く導光手段と、前記近赤外装置にスペクトルの測定指令を出力するとともに測定したスペクトルを予め作成した検量線に代入して液状試料の化学成分または理化学的特性を算出する制御手段とを備える液状試料の分析装置。

【請求項6】 請求項5に記載の液状試料の分析装置において、前記光源としてタングステンハロゲンランプ等の白色光源を用い、光センサーとしてダイオ

ードアレイを用いたことを特徴とする液状試料の分析装置。

【請求項 7】 請求項 5 に記載の液状試料の分析装置において、前記光源として分光した短波長域の近赤外線光を用い、光センサーとしてシリコン検出器を用いたことを特徴とする液状試料の分析装置。

【請求項 8】 請求項 5 に記載の液状試料の分析装置において、前記導光手段は光ファイバーまたは光ファイバーバンドルであることを特徴とする液状試料の分析装置。

【請求項 9】 請求項 5 に記載の液状試料の分析装置において、前記ブロックは試験管内の液状試料を所定の温度に安定化せしめるための温度制御手段を備えることを特徴とする液状試料の分析装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ホモジナイズしない生乳、野菜ジュース、食用油などの液状試料の化学成分および理化学的特性（以下、目的特性と呼ぶ）を分析する近赤外分光法を用いた液状試料の分析法およびその装置に関する。

【0002】

【従来の技術】

近赤外光を用いて食品の糖度などを非破壊で測定する方法が従来から知られている。例えば、特開平 1 1 - 4 4 6 3 8 号公報には、果物にハロゲンランプ等の白色光を照射し、透過光強度の波長に対する分布（透過光スペクトル）を測定し、これを分析することで果物の糖度を測定するという近赤外光の吸収分光手法が開示されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

上述した近赤外光の吸収分光手法では、極めて大雑把な測定しか行えず、例えば食品中の脂肪、タンパク質、デンプン、ヨウ素価、酸価などを正確に測定することはできない。

【0004】

正確な測定値を得るには、上記の液状試料から夾雑物を完全に除去し、あるいはホモジナイズする処理が必要となり、これでは近赤外分光法の利点である迅速性、簡便性が損なわれてしまう。

【0005】

また、従来の近赤外分光法にあっては、波長域として1100nm～2500nmの近赤外光を用いているため、光路長が0.1～2mmの特殊な水晶製の試料セルを用意する必要がある。このため、洗浄・乾燥・試料の充填などの操作が面倒で、時間を要し、更に光路長が狭いことから試料の不均一さや夾雑物の存在が測定結果に大きく影響を及ぼしてしまう。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明は、近赤外光であっても短波長域、具体的には700nm～1100nmの領域の近赤外光であれば、長波長域よりも10～100倍ほど透過力が大きく、短波長域の近赤外光を用いれば光路長を1～2cm程度にすることができ、通常の試験管を用いても分析が可能となるという知見に基づいてなしたものである。

【0007】

即ち、本発明に係る液状試料の分析法は、試験管内の液状試料に外部から短波長域（700nm～1100nm）の近赤外光を照射し、液状試料からの散乱反射光、散乱透過光あるいは透過反射光を光センサーで検出して液状試料の近赤外吸収スペクトルを測定し、この測定値を、同様の方法により測定したスペクトルから予め作成した検量線に代入することで、液状試料の化学成分または理化学的特性を知るようにした。

【0008】

近赤外光を対象物（液状試料）に照射すると、対象物に含まれる各種分子により特定の波長のみがその分子数に比例して吸収される。そして、分子構造（分子の種類）により吸収される光の波長が異なる。液状試料のように多種成分が含まれるものでは、吸収が重なりあった複雑な吸収現象が起こる。吸光度（光の吸収される度合い）を波長ごとにプロットすることにより近赤外吸収スペクトルが得

られ、この近赤外吸収スペクトルを用いて定量分析を行うには、目的特性の値（濃度或いは特性値）とスペクトルデータとを関係づける関係式（検量線）が必要となる。通常検量線は、目的特性値が既知な試料のスペクトルを測定し、そのスペクトルデータと目的特性値に基づいて、重回帰分析、主成分回帰分析、PLS回帰分析などのケモメトリックス（chemometrics）の手法により作成することができる。

【0009】

本発明の対象となる液状試料としては、例えば、牛乳、果実・野菜ジュース、食用油などの食品の他、胃液、尿、工場廃水及び湖水などが挙げられる。

【0010】

前記検量線を作成するための試料のスペクトル測定では、同一規格の複数の試験管を用いることが好ましい。このようにすることで、ルーチン分析時に当該規格の複数の試験管を使用することが可能になる。

【0011】

また、上記目的を達成するため本発明に係る液状試料の分析装置は、試験管の収納部を形成したブロックと、光源または試料からの光から短波長域の近赤外光を分光する分光器と近赤外光を検出する光センサーを備えた近赤外装置と、前記光源あるいは前記分光器から発せられた短波長域の近赤外光を収納部内の試験管まで導くとともに試験管内の液状試料からの散乱反射光、散乱透過光あるいは透過反射光を前記分光器を経てあるいは直接前記光センサーまで導く導光手段と、前記近赤外装置にスペクトルの測定指令を出力するとともに測定したスペクトルを予め作成した検量線に代入して液状試料の化学成分または理化学的特性を算出する制御手段とを備えた構成とした。

【0012】

前記光源としては、例えばタングステンハロゲンランプ等の白色光源を用い、光センサーとしてダイオードアレイを用いる。

また、光源として分光した近赤外光を用いる場合には、光センサーとしてシリコン検出器を用いることが好ましい。

また、導光手段としては、光ファイバー（単線）または光ファイバーバンドル

(光ファイバーを束ねたもの) が好ましい。

更に前記ブロックに、試験管内の液状試料を所定の温度に安定化せしめるための温度制御手段を設けることで、高精度の測定が可能となる。

【 0 0 1 3 】

【発明の実施の形態】

以下に本発明の実施の形態を説明する。図1は本発明に係る液状試料の分析法を実施する装置の一例の全体図、図2は同装置で基準物質を分析している状態を示す部分拡大断面図、図3は同装置で液状試料を分析している状態を示す部分拡大断面図である。

【 0 0 1 4 】

本発明の液状試料の分析方法を実施するための分析装置は、図1に示すように、分散型近赤外装置1と、制御するコンピュータ2を備え、分散型近赤外装置1内には光源からの白色光から近赤外光を分光する分光器と近赤外光を検出する光センサーが内蔵され、また近赤外装置1にはアルミニウム製のブロック3が付設されている。

【 0 0 1 5 】

このブロック3には試験管4を装填可能とした収納部5が形成され、収納部5の上面は開放され、この開放された部分からのノイズ光の入射を防ぐためのキャップ6が配置されている。

【 0 0 1 6 】

また、収納部5の内側面には一端が前記近赤外装置1内の分光器につながる光ファイバー7の他端が臨み、収納部5の内側面で光ファイバー7の他端と対向する位置には一端が近赤外装置1内の光センサーにつながる光ファイバー8の他端が臨んでいる。そして、前記光ファイバー7、8は蛇腹チューブ9で保護されている。

【 0 0 1 7 】

更に、ブロック3の下面には、試験管4内の液状試料を所定の温度に安定化せしめるためのパネルヒータなどの加熱装置10が設けられ、この加熱装置10をコントローラ11で制御するようにしている。

【 0 0 1 8 】

以上の分析装置を用いた試料液状試料のスペクトル測定手順を以下に述べる。

まず、アルミニウムブロック 3 の収納部 5 内にスペクトル測定の基準物質であるセラミック板 1 2 (厚さ 2.5 mm) をセットし、その上に遮光用キャップ 6 をかぶせる。次に、制御用コンピュータ 2 を操作して、セラミック板 1 2 の透過光強度を測定する。すなわち、近赤外装置 1 のスリットからの 7 0 0 nm ~ 1 1 0 0 nm 域の分光した近赤外光を光ファイバー 7 を介してセラミック板 1 2 に照射し、セラミック板 1 2 を拡散透過した光を光ファイバー 8 を介して近赤外装置 1 内の光センサーで検出する。

【 0 0 1 9 】

近赤外装置 1 は約 0.5 秒間で所定の波長域を掃引可能であり、通常 5 0 回程度の掃引を行い、得られたスペクトルを平均化して各波長におけるセラミック板 1 2 の透過光強度を測定する。

【 0 0 2 0 】

次に、セラミック板 1 2 に換えて、ウォーターバスなどで所定の温度に調整した液状試料試料入り試験管 4 を収納部 5 に入れ、同様の手順で液状試料試料の透過光強度を測定する。

【 0 0 2 1 】

次に、制御用コンピュータ 2 で式 (1) で示す吸光度を算出し、制御用コンピュータ 2 の画面に、波長に対して吸光度をプロットした所謂近赤外吸収スペクトルを表示させる。

$$A(\lambda) = \log \{ E_r(\lambda) / E_s(\lambda) \} \quad (1)$$

ここで、 $A(\lambda)$: 波長 λ nm における吸光度

$E_r(\lambda)$: 波長 λ nm におけるセラミック板を透過した光の強度

$E_s(\lambda)$: 波長 λ nm における液状試料を透過した光の強度

【 0 0 2 2 】

図 4 に、ハウレンソウジュース、トマトジュース、生乳の近赤外吸収スペクトルを示す。9 7 0 nm に見られる吸収バンド (山形のピーク) は主に水による吸収である。試料に含まれる硝酸、シュウ酸、アスコルピン酸 (ビタミン C)、脂

肪、タンパク質および乳糖などの目的特性による吸収バンドを明瞭に見ることはできない。しかし、これらの目的特性に関する情報も同スペクトルに含まれており、

ここで、スペクトルデータから各目的特性に関する情報を抽出するには、それらに関連付ける検量線が必要となる。以下に硝酸含量を測定するための検量線の作成手順について述べる。

【 0 0 2 3 】

(1) 硝酸含量にバラッキのあると思われる液状試料を用意し、各液状試料の硝酸含量を公知の手法により求める。

(2) 硝酸含量が適度のバラついた液状試料を少なくとも100検体準備する。

(3) 液状試料を試験管4に充填し、ウォーターバスで品温を所定の温度に整えた後、前述した方法により液状試料の近赤外吸収スペクトルを測定する。この操作を検体数だけ繰り返す。

(4) 分析した硝酸含量を対応するスペクトルデータファイルに入力する。

(5) 硝酸含量を付したスペクトルデータを検量作成用と評価用に2分割する。

(6) 必要に応じて近赤外吸収スペクトルの前処理として検量線作成用スペクトルデータにMSC処理、微分処理などを施す。

(7) 前処理を施した検量線作成用スペクトルデータを用いて、ケモメトリックスの手法、例えば、重回帰分析、主成分回帰分析、PLS回帰分析等の手法により検量線の候補となる関係式(回帰式)を複数作成する。

(8) 検量線作成に使用しなかった検量線評価用スペクトルデータを用いて、前項で作成された関係式の性能を誤差の標準偏差(SEP)により評価する。標準偏差(SEP)が最も小さいものをルーチン分析時の検量線として採用する。

【 0 0 2 4 】

ハウレンソウジュースの2次微分スペクトルを用い重回帰分析を行った結果を表1に、生乳の原スペクトルを用いてPLS回帰分析を行った結果を表2に示す。ハウレンソウの硝酸の測定は863nm、880nm、824nmおよび1016nmの波長における吸光度を測定するだけで可能となる。

【 0 0 2 5 】

【表 1】

ホウレンソウジュース 2 次微分スペクトルの重回帰分析結果

成 分	$\lambda 1$	$\lambda 2$	$\lambda 3$	$\lambda 4$	R	SEC	SEP	Δ 17%
硝酸 (mg/100g)	863	880	824	1016	0.86	18.3	18.7	0.0
シュウ酸 (mg/100g)	974	916	726	998	0.89	74.0	86.0	-5.2

R: 重相関係数

SEC: 検量線作成時の標準誤差

SEP: 検量線評価時の標準誤差

 Δ 17%: 化学成分値の平均値と NIR 値の平均値の差

【0026】

【表 2】

生乳原スペクトルの PLS 回帰分析結果

成分	F	R	SEC	SEP	Δ 17%
脂肪 (%)	4	0.99	0.12	0.11	0.00
タンパク質 (%)	7	0.97	0.07	0.07	0.00
乳糖 (%)	9	0.89	0.08	0.08	-0.01

F: 検量線に使用したファクター数

R: 重相関係数

SEC: 検量線作成時の標準誤差

SEP: 検量線評価時の標準誤差

 Δ 17%: 化学成分値の平均値と NIR 値の平均値の差

【0027】

この検量線の化学分析値と NIR 測定値の間の重相関係数は 0.86、標準誤差 (SEC) は 18.3 mg/100g である。また、別のデータセットを用いて行う検量線評価時の標準誤差 (SEP) は 18.7 mg/100g である。ルーチン分析の場合、この標準誤差 (SEP) の値の誤差をもって測定が行われることになる。生乳の場合、例えば、脂肪は 0.11% の誤差で測定可能である。

【0028】

ルーチン分析では、例えば、次のような検量線を用いる。

(1) 目的特性がホウレンソウジュースの硝酸含量の場合

硝酸含量 (mg/100g) = $K_0 + K_1 \cdot L(863) + K_2 \cdot L(880) + K_3 \cdot L(824) + K_4 \cdot L(1016) \cdots$ (

2)

ここで、 $L(\lambda)$: λ nmにおける吸光度の2次微分値

 K_i : i 次の回帰係数 (但し、 $i = 0 \sim 4$)

【 0 0 2 9 】

(2) 目的特性が生乳の脂肪含量の場合

$$\text{脂肪含量}(\%) = F1 \cdot q1 + F2 \cdot q2 + F3 \cdot q3 + F4 \cdot q4 \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot (3)$$

ここで、 $F_i = \sum A(\lambda) \cdot W_i(\lambda)$

F i : i 次のファクター (但し、 $i = 1 \sim 4$)

A (λ) : 生乳の原スペクトル (λ nmにおける吸光度)

$$W_i(\lambda) : 1 \text{ 次のローディング・ウェイト (但し、} i = 1 \sim 4)$$
 q_i : i 次の回帰係数 (但し、 $i = 1 \sim 4$)

【 0 0 3 0 】

回帰係数 K_i および q_i 、およびローディング・ウェイト $W_i(\lambda)$ は各目的特性に応じて決定される定数であるので、各波長における吸光度が測定されれば式(2)あるいは式(3)を用いて硝酸含量あるいは脂肪含量が算出される。他の目的特性についても、同様の方法により定量分析が可能である。

【 0 0 3 1 】

現場などにおけるルーチン分析における液状試料の分析手順は次のようになる。但し、上述した検量線が近赤外装置 1 に記憶されているものとする。

【0032】

(1) 近赤外装置 1 の電源を入れ、安定化した後、セラミック板 1 2 を用いて基準スペクトルを測定する。

(2) 試料を試験管4に詰めて、ウォーターバスで品温を調整する。

(3) 温度の調整を行った試料入りの試験管4をブロック5の収納部5に装填し、制御用コンピュータ2を操作して分散型近赤外装置1にスペクトル測定をさせる。

(4) スペクトル測定後、制御用コンピュータ 2 は記憶している検量線と得られたスペクトルに基づいて目的特性値を算出し、目的特性値を画面に表示する。

(5) 試料の数だけ、(2)～(4)の装置を繰り返せば、それぞれの試料に対する目的特性値が得られる。(3)および(4)の操作に要する時間は30秒程

度である。

【0033】

ハウレンソウの硝酸含量を本分析方法（N I R）によって分析した結果と、従来の化学分析によって分析した結果の相関関係を図5に示す。図5は、本分析方法（N I R）によるハウレンソウの硝酸含量の分析値と従来の化学分析によるハウレンソウの硝酸含量の分析値が極めて高い相関をもっていることを表している。

【0034】

また、生乳の脂肪含量を本分析方法（N I R）によって分析した結果と、従来の化学分析によって分析した結果の相関関係を図6に示す。図6は、本分析方法（N I R）による生乳の脂肪含量の測定値と従来の化学分析による生乳の脂肪含量の分析値が極めて高い相関をもっていることを表している。

【0035】

なお上述の実施の形態においては、拡散透過法を用いた液状試料の目的特性を測定した場合について説明した。しかし、拡散反射法あるいは透過反射法を用いることも可能である。もちろん、これらの場合、光ファイバーの配置は異なってくる。

【0036】

【発明の効果】

以上に説明したように本発明に係る液状試料の分析法によれば、試料に対して均一化あるいは夾雑物の除去などの前処理を必要とせず、また、液状試料をいれるための特殊な試料セルを必要としないので、簡易に、しかも迅速に液状試料の目的特性値を得ることが可能となる。従って、農業、食品工場などの現場において対象物の主要成分及び特性に関する情報が瞬時に入手可能になり、これによって高度な品質管理、工程管理を実現できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明に係る液状試料分析法を実施する装置の一例の全体図

【図2】

同装置で基準物質を分析している状態を示す部分拡大断面図

【図 3】

同装置で液状試料を分析している状態を示す部分拡大断面図

【図 4】

ハウレンソウジュース、トマトジュース、生乳の近赤外吸収スペクトル図

【図 5】

本発明方法と従来の化学分析による分析値とをハウレンソウの硝酸含量について比較したグラフ。

【図 6】

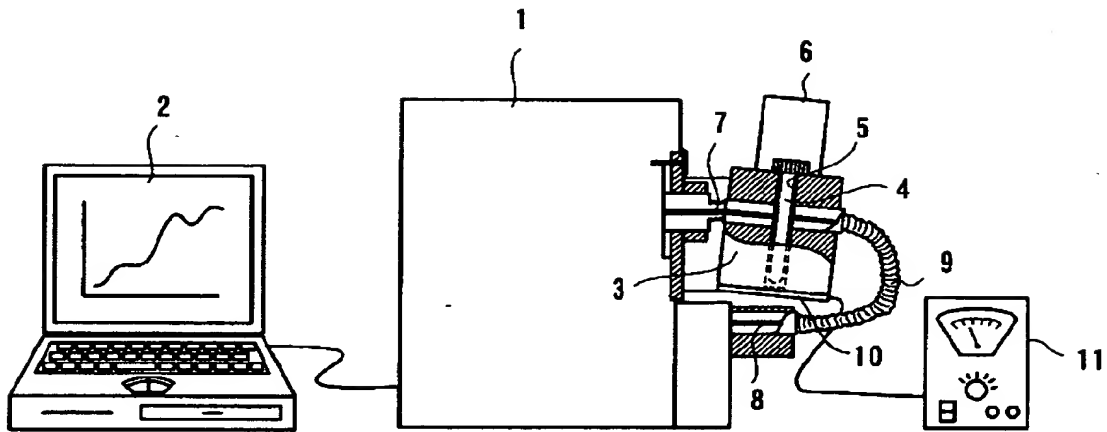
本発明方法と従来の化学分析による分析値とを生乳の脂肪含量について比較したグラフ。

【符号の説明】

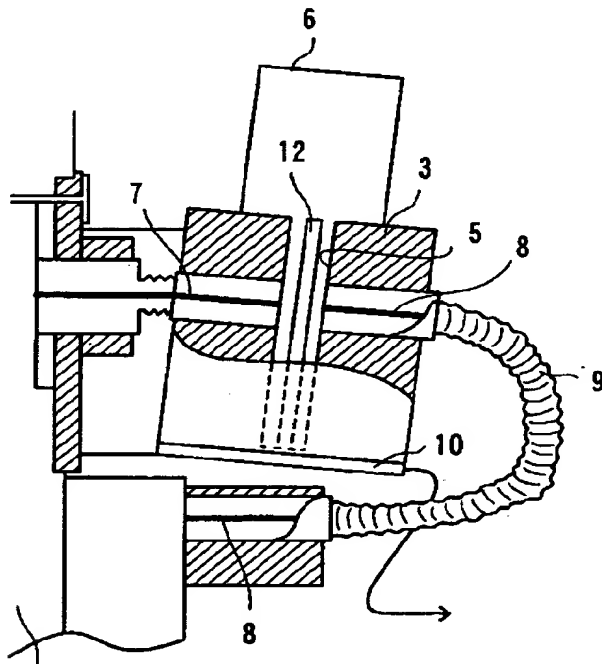
1 …分散型近赤外装置、2 …コンピュータ、3 …ブロック、4 …試験管、5 …
収納部、6 …遮光用キャップ、7、8 …光ファイバー、9 …蛇腹チューブ、10
…加熱装置、11 …コントローラ、12 …基準用セラミック板。

【書類名】 図面

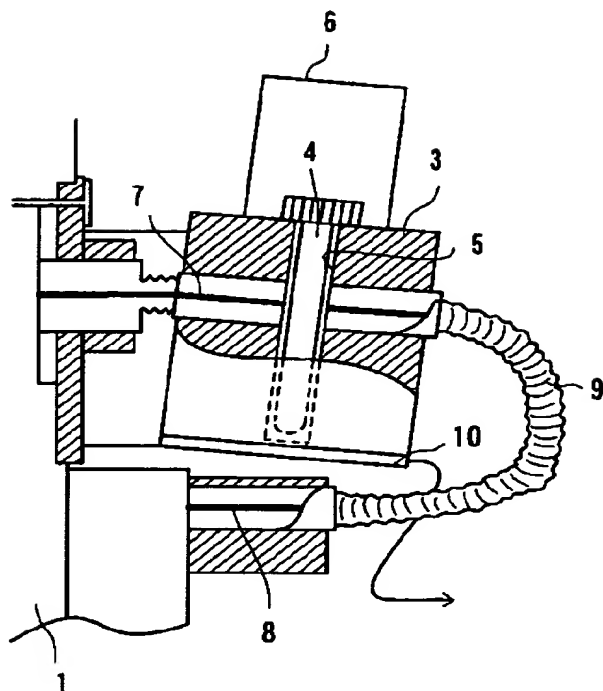
【図 1】



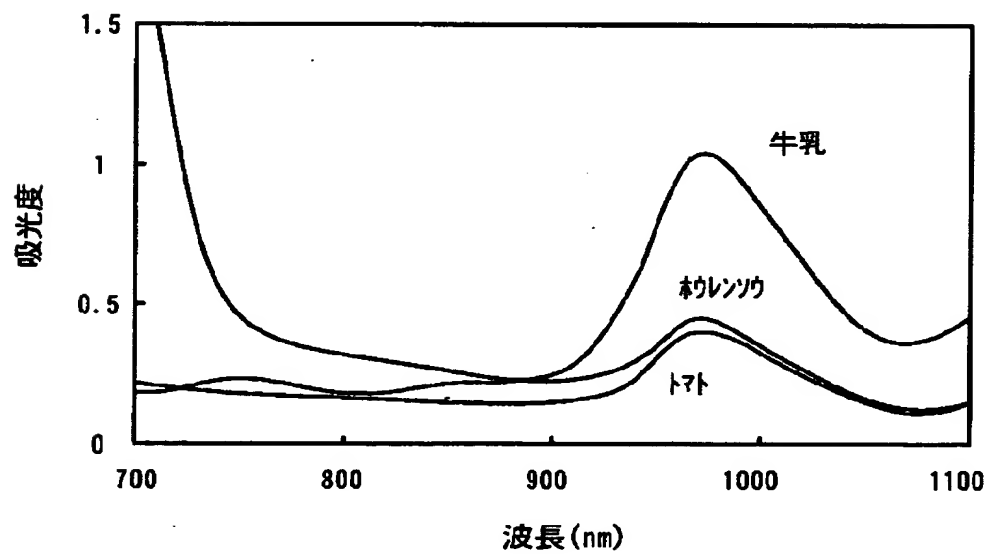
【図 2】



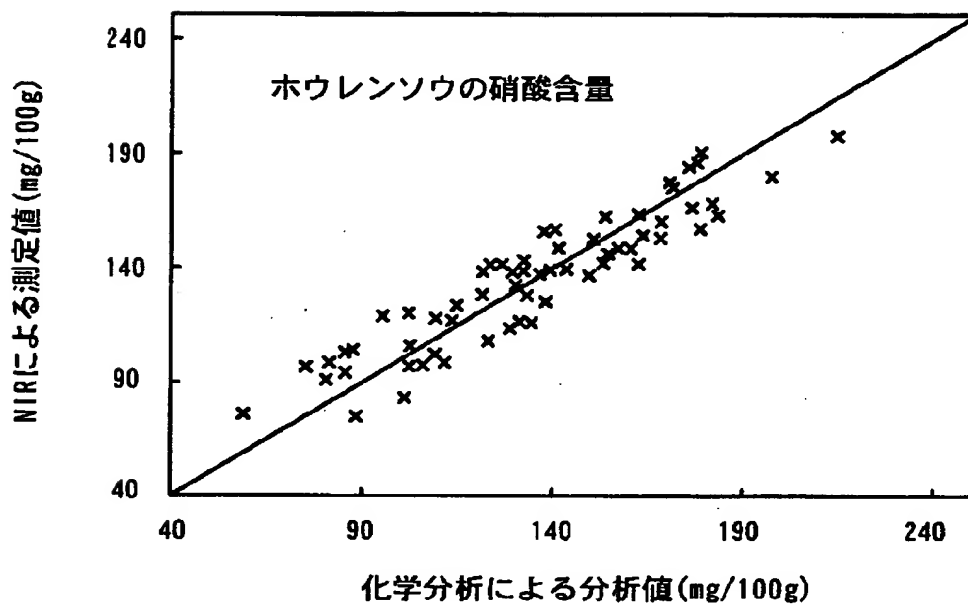
【図3】



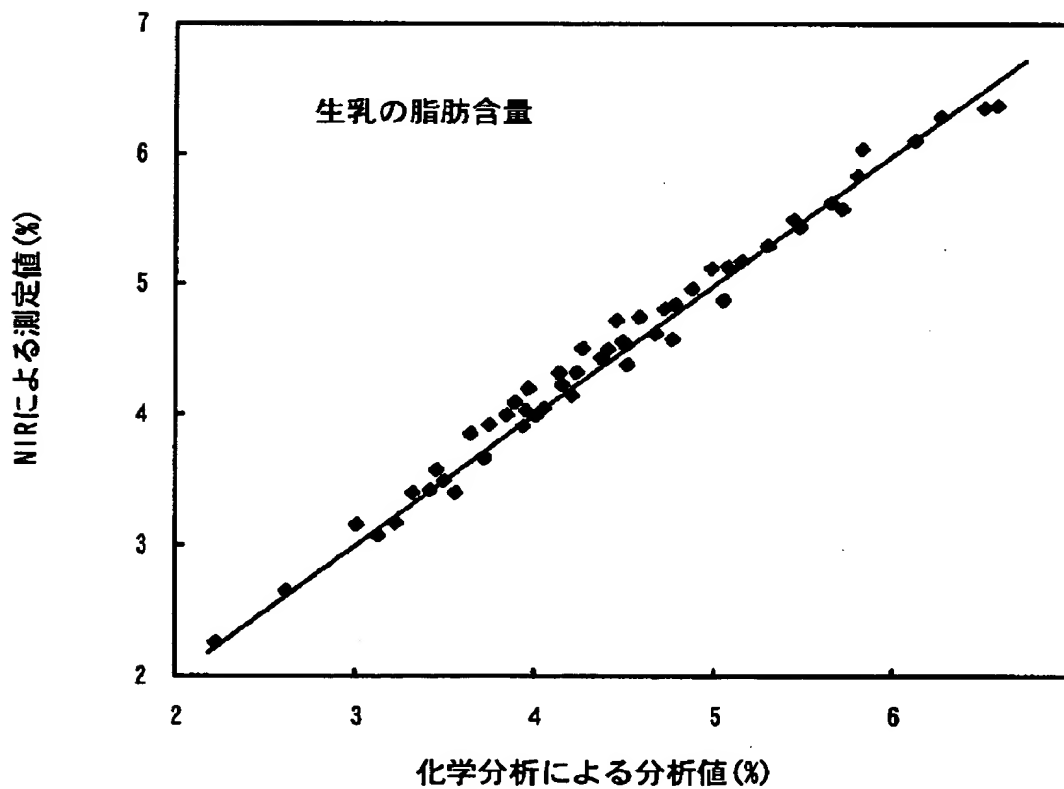
【図4】



【図 5】



【図 6】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 簡易的ではあっても高精度に液状試料の化学成分および理化学的特性の分析を行える分析法および分析装置を提供する。

【解決手段】 先ず、近赤外装置 1 のスリットからの 7 0 0 n m ~ 1 1 0 0 n m 域の分光した近赤外光を光ファイバー 7 を介して基準のセラミック板に照射し、スペクトル測定 of 基準物質であるセラミック板の透過光強度を測定する。次に、セラミック板に換えて、ウォーターバスなどで所定の温度に調整した液状試料入り試験管 4 を収納部 5 に入れ、同様の手順で液状試料の透過光強度を測定する。次に、コンピュータ 2 の画面に、波長に対して吸光度をプロットしたいわゆる近赤外吸収スペクトルを表示させるとともに、検量線を用いてスペクトルデータから各目的特性に関する情報を抽出する。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [591031360]

1. 変更年月日	1991年 2月19日
[変更理由]	新規登録
住 所	茨城県つくば市観音台2丁目1-2
氏 名	農林水産省食品総合研究所長

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000195568]

1. 変更年月日	1990年 8月21日
[変更理由]	新規登録
住 所	埼玉県大宮市日進町1丁目40番地2
氏 名	生物系特定産業技術研究推進機構